



**Kerman University of Medical sciences**

**School of Pharmacy**

**Pharmaceutics Research Center**

**For the Certificate of Pharm.D Degree**



**Title:**

**Preparation and evaluation of  $\alpha$ -tocopherol  
catanionic vesicle**

**By:**

**Parizad Sadat Pirooz**

**Supervisors:**

**Dr. Abbas Pardakhty**

**Dr. Payam Khazaeli**

**Sep 2013**

**Thesis No: 700**



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان

دانشکده داروسازی و علوم دارویی

مرکز تحقیقات فارماسیوتیکس

پایان نامه دکترای عمومی داروسازی

عنوان:

تهیه و ارزیابی سامانه های وزیکولی کاتانیونیک حاوی  
آلفاتوکوفرول

توسط:

پریزاد سادات پیروز

به راهنمایی:

دکتر عباس پرداختی

دکتر پیام خزائی

## چکیده

مقدمه: استرس اکسیداتیو یک عامل مهم در آسیب نورونی بعضی اختلالات مغزی و بیماری های نورودژنراتیو مثل آلزایمر، پارکینسون و... می باشد. این نوع آسیب عمدتاً به وسیله ی رادیکال های آزاد اکسیژن (گونه های فعال اکسیژن) القا می گردد. سیستم اعصاب مرکزی به طور استثنایی درجه ی بالایی از آسیب پذیری را نسبت به این گونه های فعال نشان می دهد. ترکیبات آنتی اکسیدان طبیعی مثل ویتامین ای و ویتامین سی نقش مهمی در جمع کردن این رادیکال ها داشته و بنابراین می توانند مرگ سلول های نورونی را متوقف نمایند. از نقطه نظر درمانی، آنتی اکسیدان های شیمیایی به صورت آزاد در حفاظت از بافت های مغزی در مقابل حملات اکسیداتیو موثر واقع نمی شوند. از سوی دیگر به علت کم بودن غلظت ویتامین ای در مایع مغزی- نخاعی، تلاش شد تا با محبوس سازی این آنتی اکسیدان لیپوفیل در یک سامانه ی جدید دارو رسانی یعنی کاتانیونیک وزیکول از آسیب اکسیداتیو جلوگیری شود. این وزیکول های کاتانیونیک از سورفاکتانت های با بار مخالف تشکیل می شوند.

روش کار: در این مطالعه، وزیکول های کاتانیونیک (کاتازوم) متشکل از سدیم دودسیل سولفات (سورفاکتانت آنیونی) و ستیل تری متیل آمونیوم بروماید (سورفاکتانت کاتیونی) و کلسترول به وسیله روش هیدراتاسیون لایه نازک چربی برای ویتامین ای تهیه شدند. ترکیب سورفاکتانت های کاتانیونیک (سدیم دودسیل سولفات و ستیل تری متیل آمونیوم بروماید) با کلسترول به عنوان فاز روغنی و آب دیونیزه به عنوان فاز آبی استفاده شدند. اندازه ذرات توسط روش پراش نور لیزر تعیین

شد. همچنین آزادسازی دارو از ساختارهای وزیکولی با کمک سل انتشار فرانتز مطالعه و اندازه گیری شد. پایداری وزیکل ها در طول شش ماه نگه داری در یخچال به کمک اندازه گیری سایز و بررسی شکل با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت. همچنین درصد محبوس سازی با استفاده از کیسه ی دیالیز و اسپکتروفوتومتری فرابنفش تعیین گردید.

**نتایج:** در مشاهدات میکروسکوپی از فرمولاسیون های تهیه شده، اکثر مشاهدات سه نوع مورفولوژی شاخص شامل وزیکول های چند لایه ای، وزیکول های تک لایه ای کوچک و وزیکول های تک لایه ای بزرگ را نشان دادند.

در اندازه گیری سایز وزیکل ها، اثر سه فاکتور مهم شامل سونیکیشن، استفاده از سدیم کلراید به جای آب دیونیزه در روش ساخت و وجود ماده موثره ی فارماسیوتیکی بر روی قطر میانگین حجمی مشخص شد.

درصد محبوس سازی آلفا-توکوفرول در وزیکول های کاتانیونیک بیش از ۹۰٪ نشان داده شد. درصد آزاد سازی آلفا-توکوفرول از فرمولاسیون های وزیکولار طی چهار ساعت، به دلیل طبیعت چربی دوستی آن مقدار ناچیزی (کمتر از ۵٪) مشخص شد.

در نهایت، پایداری فیزیکی بالای فرمولاسیون های وزیکولی بر اساس تغییرات نا چیز در قطر میانگین حجمی و مشاهدات میکروسکوپی طی شش ماه نگهداری در دمای ۸-۴ درجه سانتیگراد ثابت شد.

**نتیجه گیری:** این مطالعه نشانگر محبوس سازی موفقیت آمیز آلفا-توکوفرول در وزیکول های کاتانیونیک متشکل از ستیل تری متیل آمونیوم بروماید، سدیم دودسیل سولفات و کلسترول می باشد.

خوشبختانه این سیستم جدید دارورسانی می تواند برای کاربرد های موضعی یا سیستمیک ویتامین ای در بیماری های مرتبط با استرس اکسیداتیو یا بیماری های نورودژنراتیو استفاده شود. این سیستم می تواند در مطالعات بالینی یا درون تنی آینده بررسی شود.

**کلمات کلیدی:** آلفا-توکوفرول، وزیکول کاتانیونیک، روش تشکیل لایه نازک چربی،

نورودژنراسیون، استرس اکسیداتیو.



## Abstract

**Introduction:** Oxidative stress is a causal factor in the neuropathogenesis of some cerebral disorders and neurodegenerative diseases such as Alzheimer disease, Parkinson disease and so on. This type of damage is mostly induced by oxygen free-radicals or reactive oxygen species (ROS). The central nervous system shows an exceptionally high degree of vulnerability to ROS. Natural antioxidant compounds like vitamin E, vitamin C and others have an important role in scavenging free radicals, so can block neuronal death. From the therapeutic point of view, free chemical antioxidants are almost ineffective to protect cerebral tissues from those oxidative attacks. On the other hand, because the CSF-level of vitamin E does not reach enough, an attempt has been made to prevent the oxidative damage by the entrapment of a lipophilic antioxidant ( $\alpha$ -tocopherol) in a new drug delivery system, named catanionic vesicles. These vesicles are formed from oppositely charged surfactants (CTAB and SDS).

**Methods:** In this study, catanionic vesicles (Catasomes) containing SDS, CTAB and cholesterol were prepared by conventional film hydration method for vitamin E. The combination of catanionic surfactants (CTAB and SDS) with cholesterol were used as lipid phase and deionized water as

hydration medium. Size analysis was carried out using laser light scattering method. Also the release of the drug from these vesicles was studied utilizing Franz diffusion cells. The stability of vesicles was evaluated by measuring the size and morphologically observation by using an optical microscope during six months storage at 4-8°C. Also the percent of encapsulation efficiency (%EE) was measured by dialysis method and UV spectrophotometer.

**Results:** In optical microscope evaluation of prepared catanionic formulations, most of observations showed three obvious morphology, including MLV (multilamellar), SUV (small unilamellar) and LUV (large unilamellar) types.

In vesicle size measurements, three important factors affected the mean volume diameter of formulations, including sonication, use of NaCl 0.9% instead of deionized water in preparation method and API (active pharmaceutical ingredient) presence.

Encapsulation efficiency of  $\alpha$ -tocopherol in catanionic vesicles was showed more than 90 %.

The percentage of  $\alpha$ -tocopherol release from these vesicles during 4 h was low (<5 %), as predicted because of the lipophilic nature of  $\alpha$ -tocopherol.

Finally, high physical stability of vesicular formulations was demonstrated as negligible mean volume diameter changes and microscopical observations during 6 months storage at 4-8 °C.

**Conclusions:** This study depicted the successful encapsulation of  $\alpha$ -tocopherol in the catanionic vesicles composed of CTAB, SDS and cholesterol. Hopefully, this new drug delivery system could be used for topical or systemic delivery of vitamin E in oxidative stress and neurodegenerative diseases. This could be evaluated in clinical or *in vivo* experiments in future work.

**Key words:**  $\alpha$ -tocopherol, Catanionic vesicle, Film hydration method, Neurodegeneration, Oxidative stress.